

66

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

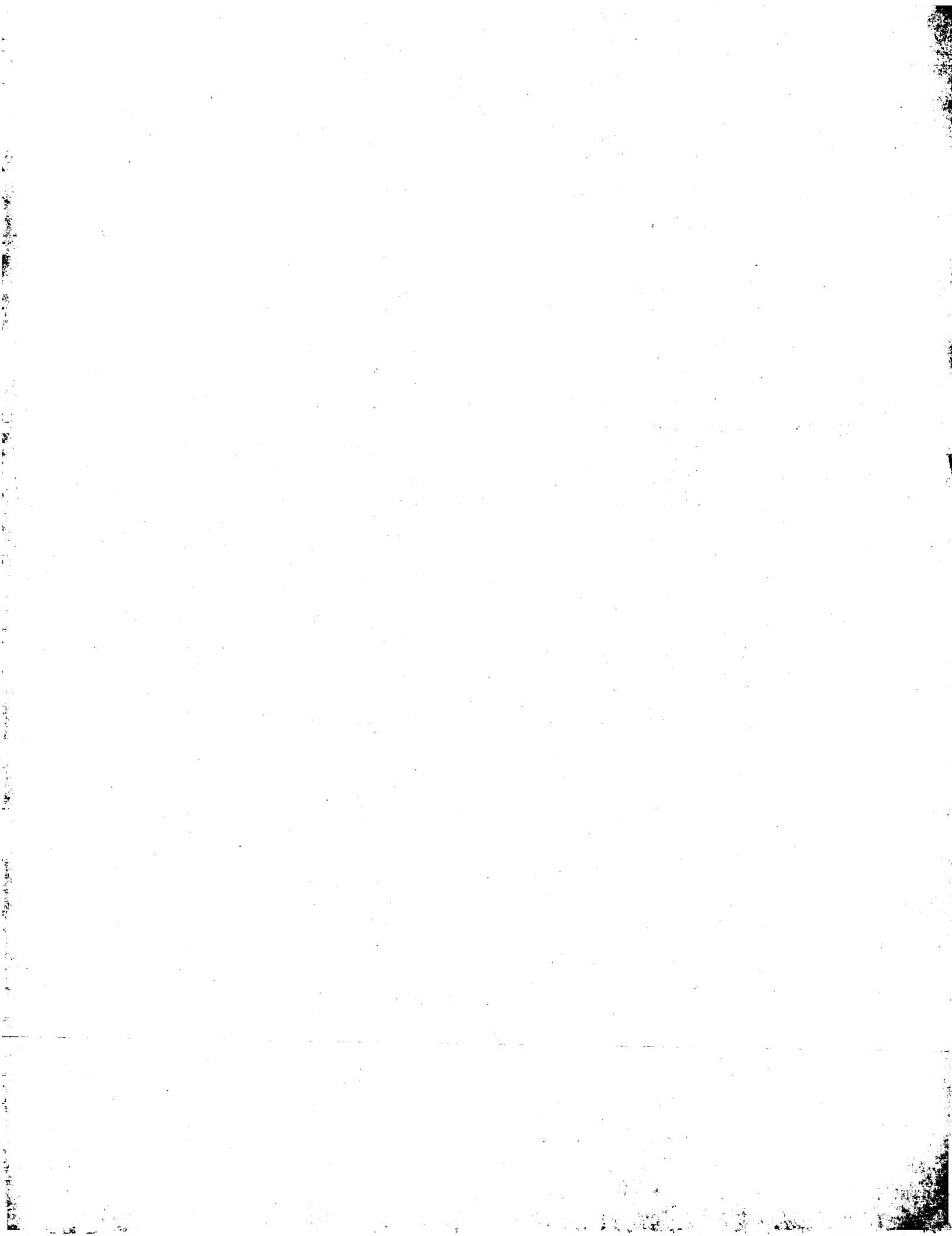
Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.



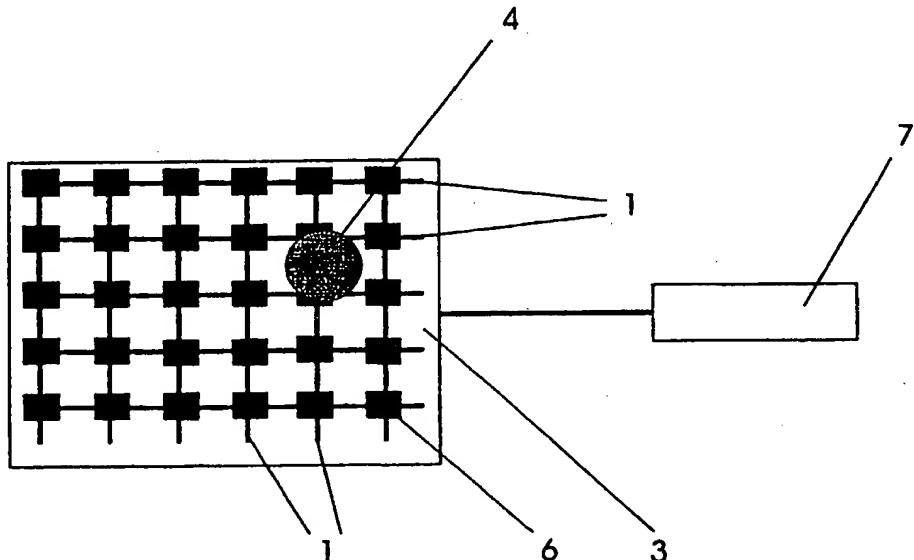
(51) Internationale Patentklassifikation ⁷ : B01L 3/02 // B01J 19/00, C12M 1/34		A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/48736
			(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 24. August 2000 (24.08.00)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE00/00455		(81) Bestimmungsstaaten: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).	
(22) Internationales Anmeldedatum: 18. Februar 2000 (18.02.00)			
(30) Prioritätsdaten: 199 06 966.2 19. Februar 1999 (19.02.99) DE			
(71) Anmelder (<i>für alle Bestimmungsstaaten ausser US</i>): GESIM GESELLSCHAFT FÜR SILIZIUM-MIKROSYSTEME MBH [DE/DE]; Rossendorfer Technologiezentrum, Bautzner Landstrasse 45, D-01474 Rossendorf (DE).			
(72) Erfinder; und		Veröffentlicht	
(75) Erfinder/Anmelder (<i>nur für US</i>): HOWITZ, Steffen [DE/DE]; Wormser Strasse 58, D-01309 Dresden (DE). BÜRGER, Mario [DE/DE]; Liebetaler Strasse 5, D-01796 Pirna (DE).		<i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i>	
(74) Anwalt: LIPPERT, STACHOW SCHMIDT & PARTNER; Krenkelstrasse 3, D-01309 Dresden (DE).			

(54) Title: SENSOR-MEASURING FIELD FOR CONTROLLING FUNCTIONING OF A MICROPIPETTE

(54) Bezeichnung: SENSOR-MEASFELD ZUR FUNKTIONSKONTROLLE EINER MIKROPIPETTE

(57) Abstract

The invention relates to a sensor for controlling functioning, e.g. for controlling drop delivery of a micropipette of a nanoplotter or the like and/or for determining the exact local drop deposition and/or its positional deviation from the envisaged deposition site and/or measuring the size of a drop. The invention aims at providing a sensor that makes it possible to detect delivery of a drop. According to the invention, this is done by using a point, line or planar shaped electrode (1) on at least one measuring field (3, 3') that is connected to at least one electronic evaluation device (7) and on which at least one test drop (4) is deposited or dropped with the aid of the micropipette.



(57) Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft einen Sensor zur Funktionskontrolle, d.h. zur Kontrolle der Tropfenabgabe, einer Mikropipette eines Nanoplotters o.dgl. und/oder zur Bestimmung der exakten örtlichen Tropfenablage und/oder dessen Lageabweichungen vom vorgesehenen Ablageort und/oder zur Messung des Ausmaßes eines Tropfens. Durch die Erfindung soll ein Sensor geschaffen werden, mit dem es möglich ist, die Abgabe eines Tropfens zu detektieren. Erfindungsgemäß erfolgt dies durch die Verwendung eines punkt-, linien- oder flächenförmig gestalteten Elektroden (1) auf wenigstens einem Meßfeld (3, 3'), das mit einer Auswertelektronik (7) verbunden ist und auf dem mit der Mikropipette wenigstens ein Testtropfen (4) abgelegt oder abgeworfen wird.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauritanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

5

SENSOR-MESSFELD ZUR FUNKTIONSKONTROLLE EINER MIKROPIPETTE

Die Erfindung betrifft einen Sensor zur Funktionskontrolle, d.h. zur Kontrolle der Tropfenabgabe, einer Mikropipette eines Nanoplotters o.dgl. und/oder zur Bestimmung der exakten örtlichen Tropfenablage und/oder dessen Lageabweichungen vom vorgesehenen Ablageort und/oder zur Messung des Ausmaßes eines Tropfens.

15 Das Hauptanwendungsgebiet des Nanoplotters ist auf dem Gebiet der DNA-Analytik, der Molekularbiologie oder auch der Proteinsynthese zu sehen.

20 Mit Hilfe eines Nanoplotters werden auf einer Ablageplatte, oder einer auf dieser positionierten Papierbahn o.dgl. eine Vielzahl von Tropfen regelmäßig verteilt, d.h. in Form eines vorher definierten Arrays, abgelegt. Zu diesem Zweck ist der Nanoplotter mit einer Mikropipette ausgerüstet, die mittels einer Traversiereinrichtung in x- und y-Richtung beliebig über 25 der Ablageplatte in eine Ablageposition positioniert werden kann. Die Mikropipette kann mit Hilfe der x-y-Robotik des Nanoplotters jederzeit über jedem Punkt der Ablageplatte rechnergesteuert positioniert werden. Die Mikropipette dient zum Aufnehmen einer geringen Menge einer beliebigen Flüssigkeit 30 aus einem Vorratsbehälter und der anschließenden Ablage eines oder mehrerer Mikrotropfen am vorgesehenen Ablageort. Zu diesem Zweck ist die Mikropipette mit einer piezoelektrisch angetriebenen Mikropumpe ausgestattet. Die Größe der abgelegten Mikrotropfen liegt in nl- bzw. pl-Bereich.

35

Wird der Nanoplotter beispielsweise für gentechnische Untersuchungen, z.B. DNA-Analysen, oder andere biologische Untersuchungen verwendet, so muß sichergestellt sein, daß jeder Trop-

fen auch an der vorgesehenen Ablagestelle abgelegt worden ist - also daß ein 100% exaktes Tropfenarray erzeugt worden ist.

5 Mit den bisher bekannt gewordenen Nanoplottern läßt sich diese Forderung nicht vollständig erfüllen, da es unvermeidbar ist, daß gelegentlich ein vorgesehenes Tropfenereignis nicht arrangiert wird. Das kann an einer zufälligen Verschmutzung der Mikropipette, an Gasblasen in der Mikropipette, oder auch daran liegen, daß die Beladung der Mikropipette mit einer 10 Flüssigkeit nicht oder nicht vollständig erfolgte.

15 Um dieses Problem zu umgehen, könnte eine hochauflösende Flußmessung vorgesehen werden, die jedoch abgesehen vom erheblichen meßtechnischen Aufwand keine Sicherheit bietet, ob im Ergebnis der Flüssigkeitsbewegung tatsächlich ein Tropfen in vorgesehenen Zielgebiet angekommen ist.

20 Die der Erfindung zugrundeliegende Aufgabenstellung besteht darin, einen Sensor zu schaffen, mit dem es möglich ist, die Abgabe eines Tropfens zu detektieren, also eine Funktionskontrolle der Mikropipette zu realisieren.

25 Die der Erfindung zugrundeliegende Aufgabe wird bei einem Sensor der eingangs genannten Art durch die Verwendung einer punkt-, linien- oder flächenförmig gestalteten Anordnung von Elektroden auf wenigstens einem Meßfeld gelöst, das mit einer Auswerteelektronik verbunden ist und auf dem mit der Mikropipette wenigstens ein Testtropfen abgelegt oder abgeworfen wird.

30 35 In einer ersten Ausgestaltung der Erfindung weist das Meßfeld eine flächig angeordnete doppelte ineinander geschobene Kammstruktur aus gegeneinander isolierten Metalleitbahnen auf einer Trägerstruktur auf, die jeweils mit der Auswerteelektronik verbunden sind.

In einer zweiten Ausgestaltung der Erfindung sind als Meßfeld konzentrisch zueinander angeordnete Ringelektroden auf einer

Trägerstruktur vorgesehen, die jeweils voneinander elektrisch isoliert angeordnet und mit der Auswerteelektronik verbunden sind.

5 Eine dritte Ausgestaltung der Erfindung sieht als Meßfeld eine regelmäßig ausgebildete Punktmatrix einzelner Elektroden auf einer Trägerstruktur vor, wobei die Elektroden einzeln oder in Gruppen mit der Auswerteelektronik verbunden sind.

10 In einer besonderen Ausgestaltung der Erfindung ist als Meßfeld eine gespannte Membran vorgesehen ist, die mit einer Auswerteelektronik verbunden ist. Diese Membran kann im Bereich der Resonanzfrequenz mit Hilfe einer Schwingungserzeugungsschaltung mittels magnetischer oder kapazitiver Kopplung 15 in Schwingungen versetzt werden, so daß die beim Auftreffen eines Testtropfens entstehende Schwingungsdämpfung oder Schwingungsänderung an die Auswerteelektronik weitergeleitet wird.

20 Das Meßfeld kann auch als temperierte Meßfläche ausgebildet sein, wobei der Sensorfläche Temperaturfühler zugeordnet sind, die mit einer Auswerteelektronik verbunden ist. Damit läßt sich der beim Auftreffen eines Tropfens auf die Meßfläche entstehende erhöhte Energiebedarf als Sensorsignal auswerten.

25 In einer besonderen Variante der Erfindung weist das Meßfeld wenigstens einen optischen Sensor auf, der mit der Auswerteschaltung verbunden ist.

30 Zur Bestimmung des x-y-Offsets eines auf dem Meßfeld abgelegten Tropfens weist das Meßfeld eine Matrix von linienförmigen Elektroden in einer Vielzahl von Zeilen und Spalten auf, wobei die Elektroden der Matrix an ihren Kreuzungspunkten elektrisch voneinander isoliert sind und jeweils mit der Auswertechaltung 35 elektrisch verbunden sind. Bevorzugt weisen die Elektroden in den Kreuzungspunkten einen geringen, Abstand zueinander auf.

Um im Zentrum des Meßfeldes eine besonders gute Ortsauflösung

zu erreichen, weist die Matrix der Elektroden einen Ortsgradienten auf, d.h. der Abstand der Kreuzungspunkte wird von innen nach außen größer, wobei der Abstand der Kreuzungspunkte im zentralen Bereich des Meßfeldes über einen vorgegebenen 5 Bereich konstant klein ist.

In einer weiteren Ausgestaltung der Erfindung besteht das Meßfeld aus konzentrisch angeordneten unterbrochenen oder durchgehenden Elektrodenringen aus einem elektrisch leitfähigen Material. Je nach der Zusammensetzung der zu plottenden 10 Flüssigkeit bestehen die Elektroden im Meßfeld aus einem Edelmetall oder aus einem zumindest auf der Oberfläche leitfähigen Kunststoff.

15 Auch können die Elektroden auf eine planare oder gekrümmte bzw. gewölbte Oberfläche der Trägerstruktur aufgebracht sein.

In einer bevorzugten Ausführungsform bildet die planare Oberfläche eines Nichtleiters, z.B. einer Glasplatte, einer Siliziumplatte oder eines Kunststoffes die Basis als Trägerstruktur 20 für die Elektrodenanordnung.

Die Herstellung des erfindungsgemäßen Sensors kann mittels der 25 bekannten Mikro-Lithografie und Schichttechnik kostengünstig erfolgen.

Vorzugsweise erfolgt die Isolation der Elektroden voneinander durch gestandene Isolatoren, wobei die Kreuzungspunkte mit Hilfe der üblicher Ätzverfahren, wie Trockenätzverfahren oder 30 mit Hilfe eines Lasers geöffnet sind.

In einer weiteren Fortführung der Erfindung sind die Elektroden heizbar ausgeführt.

35 In einer weiteren besonderen Variante der Erfindung sind zwei in definiertem Abstand nebeneinander angeordnete Meßfelder vorgesehen, die jeweils parallel zueinander ausgerichtete langgestreckte Elektroden aufweisen, wobei die Elektroden

5 eines Meßfeldes eine andere Ausrichtung aufweisen, als die Elektroden des jeweils anderen Meßfeldes. Vorzugsweise sind die dabei die Elektroden auf einem Meßfeld zur Messung der x-Position bzw. Abweichung senkrecht und auf dem anderen Meßfeld zur Messung der Y-Position bzw. Abweichung waagerecht ausgerichtet. Damit läßt sich der x- und der y-Offset des abgeworfenen Tropfens besonders exakt bestimmen.

10 In einer weiteren Ausgestaltung der Erfindung ist dem Meßfeld ein CCD- oder CMOS-Bildsensor zugeordnet ist, der auch Bestandteil einer Bildaufnahmeeinrichtung sein kann, die über der Meßfläche angeordnet ist.

15 Wird die Bildaufnahmeeinrichtung gemeinsam mit der Mikropipette positionierbar gestaltet, so besteht die Möglichkeit der direkten Kontrolle der Tropfenablage.

20 Die Erfindung soll nachfolgend an Ausführungsbeispielen näher erläutert werden. In den zugehörigen Zeichnungen zeigen:

Fig. 1 einen Sensor mit einem Meßfeld mit kammartiger Elektrodenanordnung;

25 Fig. 2 einen Sensor mit einem Meßfeld mit einer konzentrischen Elektrodenanordnung;

Fig. 3 einen Sensor mit einem Meßfeld mit Punktelektroden;

30 Fig. 4 eine Seitenansicht eines Sensors mit einer über einer Trägerstruktur gespannten Membran;

Fig. 5 einen Sensor mit einem Meßfeld mit einer Elektrodenmatrix aus sich kreuzenden linienförmigen Elektroden;

35 Fig. 6 einen Sensor mit zwei im Abstand zueinander angeordneten Meßfeldern; und

Fig. 7 einen Sensor mit einem segmentierten Meßfeld mit konzentrisch verlaufenden unterbrochenen Elektroden.

Eine erfindungsgemäße Funktionskontrolle einer Mikropipette eines Nanoplotters kann auf verschiedenem Wege realisiert werden. So ist die Verwendung von auf einer Trägerstruktur 2 punkt-, linien oder andersförmig gestalteten Elektroden 1 als Funktionstestsensor die flächenmäßig elektrisch isoliert zu-
einander angeordnet sind, möglich.

10

Derartige Elektroden 1, die auf der Trägerstruktur 2 ein Meßfeld 3 bilden, angeordnet sein, können beispielsweise eine doppelte Kammstruktur (Fig. 1), oder auch die Form von konzentrischen Ringelektroden (Fig. 2) aufweisen. Eine andere Möglichkeit besteht darin, die Elektroden als Punktmatrix (Fig. 3) aufzubauen. Die Elektroden selbst können aus beliebigen elektrisch leitfähigen Materialien hergestellt werden. Welches Material im Einzelfall für die Elektroden verwendet wird, hängt in erster Linie von der Zusammensetzung der zu plottenden Flüssigkeit ab.

Trifft ein Testtropfen 4 auf die Elektrodenanordnung, oder passiert diese, so kann anhand der Änderung der elektrischen Parameter eine elektronische Auswertung des Ereignisses vorgenommen werden. Die Auswertung kann mit Hilfe von kapazitiven, amperometrischen, konduktometrischen oder potentiometrischen Meßprinzipien erfolgen, mit denen durch eine Auswerteelektronik auswertbare Signale erzeugt werden können. Es ist auch möglich, elektrisch geladene Testtropfen 4 einzusetzen, so daß der vom Tropfen 4 ausgelöste elektrische Impuls ausgewertet werden kann. In diesem Fall genügt sogar nur eine Elektrode, z.B. eine einzelne Punktelektrode.

Es ist auch die Verwendung einer über der Trägerstruktur 2 gespannten Membran 5 als Funktionstestsensor möglich.

Mit einer derartigen Membran 5 (Fig. 4) kann das Auftreffen eines Tropfens 4 auf verschiedenen Weise zuverlässig detek-

tiert werden.

Trifft ein Tropfen 4 mit einer beliebigen Auftreffgeschwindigkeit auf die Membran 5, so wird es zwangsläufig zu einer gewissen Durchbiegung oder auch zu einer Schwingungsanregung der Membran kommen. In beiden Fällen kann die Beeinflussung der Membran 5 durch den auftreffenden Tropfen 4 mittels bekannter optischer oder elektrischer Meßverfahren (kapazitiv, induktiv) ausgewertet werden.

10

Eine andere Möglichkeit, das Auftreffen eines Tropfens 4 auf der Membran 5 zu detektieren, besteht darin, die Membran 5 mit einer vorgegebenen Frequenz, beispielsweise bei Resonanzfrequenz, in Schwingungen zu versetzen. Dies kann durch magnetische oder kapazitive Frequenzeinkopplung erfolgen. Trifft ein Tropfen 4 auf die schwingende Membran 5, so wird es zwangsläufig zu einer Dämpfung, Verstimmung usw. kommen. Diese vorübergehende Änderung im Schwingungsverhalten kann dann ohne weiteres mit einer Auswertelektronik 7 elektronisch ausgewertet werden.

20

Eine weitere Möglichkeit für die Funktionskontrolle besteht in der Verwendung eines temperierten Meßfeldes 3. Das hier anwendbare Meßprinzip beruht darauf, daß ein auf das temperierte Meßfeld 3 auftreffender Tropfen 4 einen Temperaturgradienten erzeugt. Dieser Temperaturgradient kann durch temperaturempfindliche Elemente gemessen werden.

25

Auch besteht die Möglichkeit den Energiebedarf bei der Thermostatierung zu bestimmen, da jeder auftreffende Tropfen einen erhöhten Energiebedarf für die Thermostatierung zur Folge hat, um die Temperatur konstant zu halten, oder um den Tropfen zu verdampfen. Der sich ändernde Energiebedarf kann elektronisch ausgewertet werden, so daß eine sichere Detektion eines auftreffenden Tropfens erfolgen kann.

35

Schließlich kann die Funktionskontrolle auch durch die Verwendung eines optischen Sensors erfolgen.

Mit einem optischen Sensor läßt sich ebenfalls eine sichere Detektion eines Tropfens 4 vornehmen. Hierzu wird ein lichtempfindliches Element, z.B. eine Fotodiode oder ein Fototransistor mit oder ohne zwischengeschaltete Lichtleiter in der vorgesehenen Meßposition unter im Meßfeld 3 angeordnet. Trifft ein Tropfen 4 auf das lichtempfindliche Element, so wird die auf das Element einwirkende Leuchtdichte bzw. Lichtmenge gedämpft oder verstärkt. In beiden Fällen kann eine elektronische Auswertung der Änderung der Leuchtdichte erfolgen. Um eine Erhöhung der Sensibilität zu erreichen, können auch mehrere optische Sensoren, z.B. in Form eines Arrays angeordnet werden.

Eine besondere Weiterentwicklung des Sensors besteht darin, diesen neben dem Funktionstest auch als Positonssensor einzusetzen, indem das Meßfeld 3 eine ausgedehntere flächenmäßige Ausbildung erhält. Die Elektroden 1 sind in diesem Fall flächenmäßig mit konstanten oder variablen Abständen zueinander angeordnet und ermöglichen somit eine örtliche Bestimmung aufgetroffener Tropfen (Fig. 2, 3, 7). Um dies realisieren zu können, muß natürlich die exakte Position der Pipette über dem Meßfeld bekannt sein. Diese Information liefert die x-y-Robotik des Mikroplotters.

Hierzu kann eine Elektrodenmatrix aus einer Vielzahl von Zeilen und Spalten aufgebaut werden (Fig. 5), wobei die Elektroden an ihren Kreuzungspunkten 6 elektrisch voneinander isoliert sind, z.B. einen gewissen Abstand zueinander aufweisen.

Passiert ein Tropfen 4 die Elektrodenmatrix, so läßt sich im Falle, daß mindestens ein Kreuzungspunkt 6 (Zeile/Spalte) überstrichen wird, anhand der Änderung der elektrischen Parameter mit der Auswerteelektronik 7 eine elektronische Auswertung vornehmen. Ein fluidisch benetzter Kreuzungspunkt 6 wird sich bei einer elektronischen Abfrage anders verhalten, als die Masse der anderen nicht benetzten Kreuzungspunkte 6. Auf diese Weise läßt sich eine Funktionskontrolle der Mikropi-

pette realisieren. Gleichzeitig läßt sich mit einem derartigen Sensor bestimmen, wie groß der X-Y-Offset der Mikropipette ist.

5 Eine Variante kann darin bestehen, zwei in definiertem Abstand zueinander befindliche Meßfelder 3, 3' auf einer Trägerstruktur 2 vorzusehen, die jeweils parallel zueinander ausgerichtete Elektroden 1 aufweisen, die jeweils unterschiedlich ausgerichtet sind. Auf einem Feld können die Elektroden senkrecht 10 zur Messung der X-Position und auf dem anderen Feld waagerecht zur Messung der Y-Position ausgerichtet sein (Fig. 6). Die Positionsermittlung erfolgt hier durch getrennte Probenabgabe jeweils auf das X- und das Y-Meßfeld und getrennte elektronische Auswertung. Voraussetzung hierfür ist natürlich, daß 15 die genaue Position der Pipette, die den tropfen 4 abgibt, bekannt ist.

Eine weitere Variante ein Meßfeld zu realisieren, besteht 20 darin, konzentrisch verlaufende unterbrochene oder durchgehende Elektrodenringe vorzusehen. Die Bestimmung des Offsetts erfolgt hier durch die Ermittlung der Richtung der Abweichung und deren Betrag in Bezug auf die Sensormitte (Fig. 7).

Es besteht auch die Möglichkeit, punktförmige an der Oberfläche liegende Elektroden mit zueinander isolierten Zuleitungen 25 auf der Elektrodenseite, im Basismaterial und/oder auf der Rückseite des Sensors vorzusehen, wie dies z.B. schematisch aus Fig. 3 ersichtlich ist.

30 Das anwendbare Meßprinzip (kapazitiv, amperometrisch, konduktometrisch, potentiometrisch usw.) und eine geeignete Auswerteelektronik 7 erlauben eine ausreichend schnelle Abfrage sämtlicher Kreuzungspunkte 6 der Matrix (Fig. 5), bzw. der Segmente der Elektrodenringe (Fig. 7) oder der punktförmigen 35 Elektrodenmatrix (Fig. 3).

Mit den beschriebenen Sensoren werden zwei Meßergebnisse erhalten, d.h. ob überhaupt ein Tropfen abgesetzt worden ist und

wenn ja, an welchem Ort, d.h. es wird die Abweichung vom vorgesehenen Ablageort bestimmt, so daß die Meßergebnisse der X-Y-Robotik des Nanoplotters übergeben werden können.

5 Die Fläche des Sensors muß dazu größer sein, als der vorgesehene Ablageort.

Die Elektrodenmatrix oder die konzentrisch angeordneten Ringe werden auf eine planare Oberfläche der Trägerstruktur 2 aufgebracht, beispielsweise eine Glas- oder Siliziumbasisplatte. 10 Die Leiterzüge können mittels der bekannten Mikro-Lithografie und Schichttechnik hergestellt werden. Die Zeilen und Spalten der Elektrodenmatrix werden durch gestandene anorganische Isolatoren isoliert. Die Kreuzungspunkte werden mit üblichen 15 Trockenätzverfahren geöffnet.

Um die Dynamik zu verbessern, kann der Sensor auf eine bestimmte Arbeitstemperatur geregelt werden. Es werden dabei kristallisierende (z.B. salzhaltige kristallisierende Puffer) 20 Fluide zu Arrays geplottet. Diese Fluide verschmutzen den Sensor schnell. Aus diesem Grund muß der Sensor nicht nur heizbar, sondern auch waschbar sein. Zur Vermeidung einer Korrosion werden zumindest die freiliegenden Leiterzüge bzw. die Elektroden 1 aus einem Edelmetall hergestellt.

25 Für Reinigungszwecke kann die Sensoroberfläche mit Perforationen versehen werden. Das Reinigen kann auch rein mechanisch durch Wasserauftrag und anschließendes Abtupfen erfolgen.

30 Um eine ausreichende Ortsauflösung zu erreichen, wird die Leiterzugbreite und der Abstand der Kreuzungspunkte in Korrelation mit der Tropfengeometrie gebracht.

35 Eine Reduzierung der Zeilen und Spalten ist möglich. Hierzu weist die Matrix einen Ortsgradienten auf, d.h. der Abstand der Kreuzungspunkte 6 wird von innen - dort über ein Stück konstant klein - nach außen größer. Die Matrix wird also von innen nach außen definiert ungenauer. Auf entsprechende Weise

kann dieser Ortsgradient auch bei konzentrisch angeordneten Elektroden 1 oder auch bei der Punktmatrix realisiert werden.

Ein besonderer Sensor kann mit einem optoelektronischen Sensor erreicht werden. Hierzu sind CCD-, CMOS- oder andere Bildsensoren geeignet. Bei der Ablage von Probetropfen auf den Sensor wird der Lichteintritt in die unter dem Tropfen befindlichen lichtempfindlichen Zellen verändert, so daß der Sensor eine positionsabhängige Information liefern kann.

10

Zusätzlich oder anstelle der CCD-Bildsensoren kann eine Bildaufnahmeeinrichtung, z.B. eine Videokamera, über dem Meßfeld 3, 3' angeordnet werden. Diese Bildaufnahmeeinrichtung liefert aktuelle Bilder jedes abgelegten Tropfens und erlaubt eine rechnergestützte Bildauswertung. Wird die Bildaufnahmeeinrichtung gemeinsam mit der Mikropipette positioniert, kann jeder abgeworfene optisch Tropfen analysiert werden.

20

Die vorstehend beschriebenen Sensoren werden in der Weise angewendet, daß vor jeder Tropfenablage mit dem Nanoplotter eine Probeablage auf dem Sensor vorgenommen wird. Dabei erfolgt einerseits eine Funktionskontrolle der Mikropipette und andererseits gleichzeitig die Ermittlung x- und y-Offsets der Mikropipette, der an die x-y-Robotik des Nanoplotters übergeben wird. Auf diese Weise lassen sich so exaktere Arrays mit einer Ausbeute von 100% generieren, obwohl gelegentliche Aussetzer der Mikropipette nicht auszuschließen sind. Darüberhinaus besteht die Möglichkeit, die Ausmaße des Tropfens zu bestimmen.

25

30

5

Sensor**Bezugszeichenliste**

1	Elektrode
10	2 Trägerstruktur
	3, 3' Meßfeld
	4 Testtropfen
	5 Membran
	6 Kreuzungspunkt
15	7 Auswerteelektronik

Patentansprüche

1. Sensor zur Funktionskontrolle eines mit einer Mikropipette ausgerüsteten Nanoplotters o.dgl. und/oder zur Bestimmung der exakten örtlichen Tropfenablage und/oder dessen Lageabweichungen vom vorgesehenen Ablageort und/oder zur Bestimmung des Ausmaßes eines Tropfens, gekennzeichnet durch die Verwendung eines punkt-, linien- oder flächenförmig gestalteten Elektroden (1) auf wenigstens einem Meßfeld (3, 3'), das mit einer Auswertelektronik (7) verbunden ist und auf dem mit der Mikropipette wenigstens ein Testtropfen (4) abgelegt oder abgeworfen wird.
2. Sensor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Meßfeld (3) eine flächig angeordnete doppelte ineinander geschobene Kammstruktur aus gegenüberliegenden isolierten Metallleitbahnen als Elektroden (1) auf einer Trägerstruktur (2) aufweist, die jeweils mit der Auswertelektronik (7) verbunden sind.
3. Sensor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß als Meßfeld (3) konzentrisch zueinander angeordnete Elektroden (1) auf einer Trägerstruktur (2) vorgesehen sind, die jeweils voneinander elektrisch isoliert angeordnet und mit der Auswertelektronik (7) verbunden sind.
4. Sensor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß als Meßfeld (3) eine regelmäßig ausgebildete Punktmatrix einzelner Elektroden (1) auf einer Trägerstruktur (2) vorgesehen ist, wobei die Elektroden

(1) einzeln oder in Gruppen mit der Auswerteelektronik (7) verbunden sind.

5. Sensor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß als Meßfeld (3) eine gespannte Membran vorgesehen ist, die mit einer Auswerteelektronik (7) verbunden ist.
10. Sensor nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß die Membran im Bereich der Resonanzfrequenz mit Hilfe einer Schwingungserzeugungsschaltung mittels magnetischer oder kapazitiver Kopplung in Schwingungen versetzt wird und daß die beim Auftreffen eines Testtropfens (4) entstehende Schwingungsdämpfung an die Auswerteelektronik (7) weitergeleitet wird.
15. Sensor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Meßfeld (3) als temperierte Sensorfläche ausgebildet ist und daß der Sensorfläche Temperaturfühler zugeordnet sind, die mit einer Auswerteelektronik (7) verbunden ist.
20. Sensor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Meßfeld (3) wenigstens einen optischen Sensor aufweist, der mit der Auswerteschaltung (7) verbunden ist.
25. Sensor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Meßfeld (3) eine Matrix von linienförmigen Elektroden (1) in einer Vielzahl von Zeilen und Spalten aufweist, wobei die Elektroden (1) der Matrix an ihren Kreuzungspunkten (6) elektrisch voneinander isoliert sind und jeweils mit der Auswertechaltung (7) elektrisch verbunden sind.
30. Sensor nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß die Elektroden (1) in den Kreuzungspunkten (6) einen geringen Abstand zueinander auf-

weisen.

11. Sensor nach Anspruch 9 und 10, dadurch gekennzeichnet, daß die Matrix der Elektroden (1) einen Ortsgradienten aufweist, d.h. der Abstand der Kreuzungspunkte (6) wird von innen nach außen größer.

5 12. Sensor nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß der Abstand der Kreuzungspunkte (6) im zentralen Bereich des Meßfeldes (3) über einen vorgegebenen Bereich konstant klein ist.

10 13. Sensor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Meßfeld (3) aus konzentrisch angeordneten unterbrochenen oder durchgehenden Elektrodenringen aus einem elektrisch leitfähigen Material besteht.

15 14. Sensor nach einem der Ansprüche 1 bis 4 oder 9 bis 13, dadurch gekennzeichnet, daß die Elektroden (1) im Meßfeld (3) aus einem Edelmetall oder aus einem zumindest auf der Oberfläche leitfähigen Kunststoff bestehen.

20 15. Sensor nach einem der Ansprüche 1 bis 4 oder 9 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß die Elektroden (1) auf eine planare oder gekrümmte bzw. gewölbte Oberfläche der Trägerstruktur (2) aufgebracht sind.

30 16. Sensor nach einem der Ansprüche 1 bis 15, dadurch gekennzeichnet, daß die planare Oberfläche eines Nichtleiters, z.B. einer Glasplatte, einer Siliziumplatte oder eines Kunststoffes die Basis als Trägerstruktur (2) bildet.

35 17. Sensor nach einem der Ansprüche 1 bis 16, dadurch gekennzeichnet, daß die Elektroden (1) mittels der bekannten Mikro-Lithografie und Schichttechnik

hergestellt sind.

18. Sensor nach einem der Ansprüche 1 bis 17, dadurch gekennzeichnet, daß die Elektroden (1) durch gestandene Isolatoren voneinander isoliert sind.

5

10

19. Sensor nach Anspruch 9 oder 10, dadurch gekennzeichnet, daß die Kreuzungspunkte (6) mit Hilfe der üblicher Ätzverfahren, wie Trockenätzverfahren oder mit Hilfe eines Lasers geöffnet sind.

10

20. Sensor nach einem der Ansprüche 1 bis 19, dadurch gekennzeichnet, daß die Elektroden (1) heizbar sind.

15

20

21. Sensor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß zwei in definiertem Abstand nebeneinander angeordnete Meßfelder (3, 3') vorgesehen sind, daß die Meßfelder (3, 3') jeweils parallel zueinander ausgerichtete langgestreckte Elektroden (1) aufweisen, daß die Elektroden (1) eines Meßfeldes (3; 3') eine andere Ausrichtung aufweisen, als die Elektroden (1) des jeweils anderen Meßfeldes (3; 3').

25

22. Sensor nach Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, daß die Elektroden (1) auf einem Meßfeld (3; 3') zur Messung der X-Position senkrecht und auf dem anderen Meßfeld (3; 3') zur Messung der Y-Position waagerecht ausgerichtet sind.

30

23. Sensor nach einem der Ansprüche 1 bis 22, dadurch gekennzeichnet, daß dem Meßfeld (3, 3') ein CCD- oder CMOS-Bildsensor zugeordnet ist.

35

24. Sensor nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, daß der CCD- oder CMOS-Bildsensor Bestandteil einer Bildaufnahmeeinrichtung ist, die über dem Meßfeld (3, 3') angeordnet ist.

17

25. Sensor nach Anspruch 24, dadurch gekennzeichnet, daß die Bildaufnahmeeinrichtung gemeinsam mit der Mikropipette positionierbar ist.

5

1/3

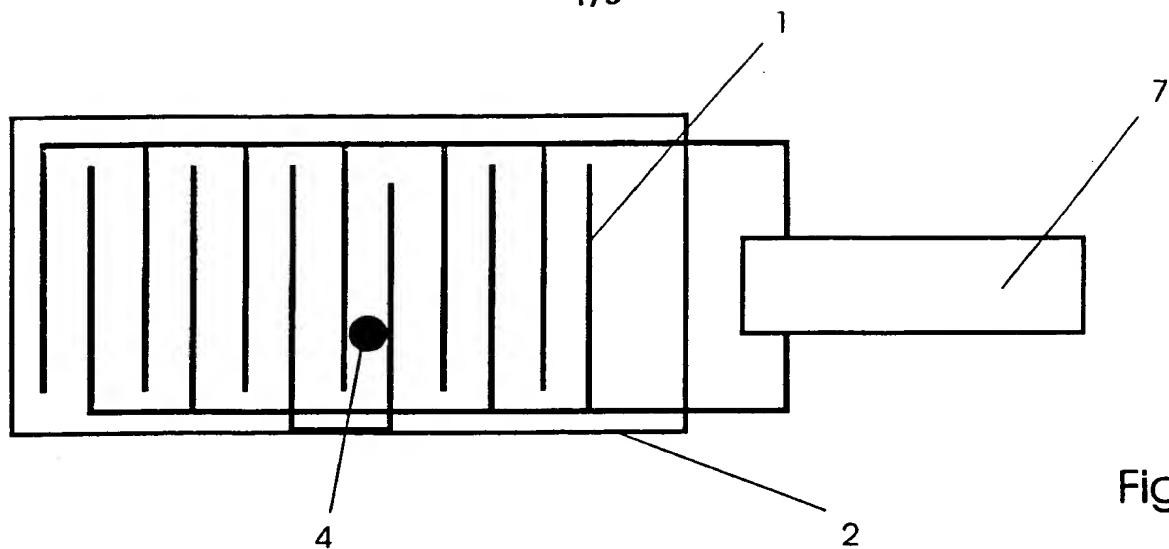


Fig. 1

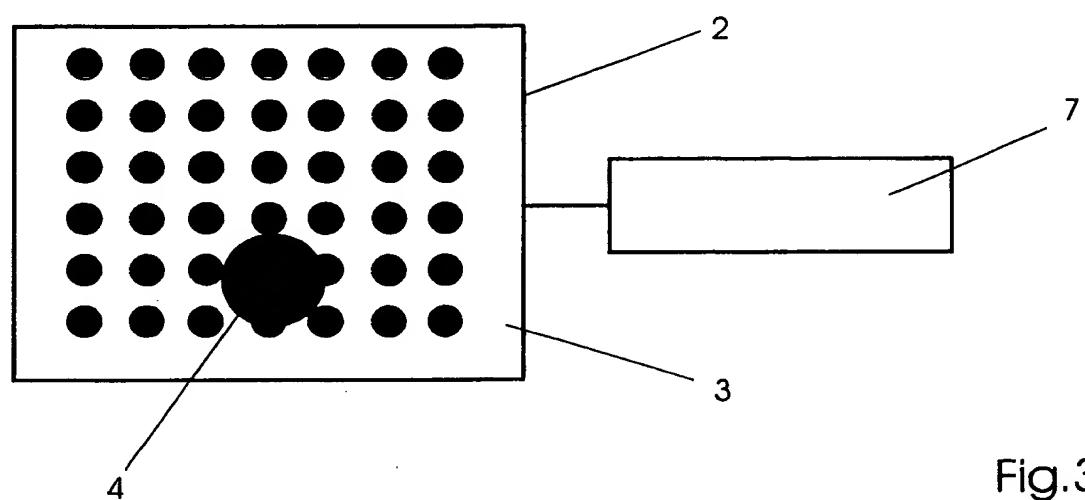


Fig. 3

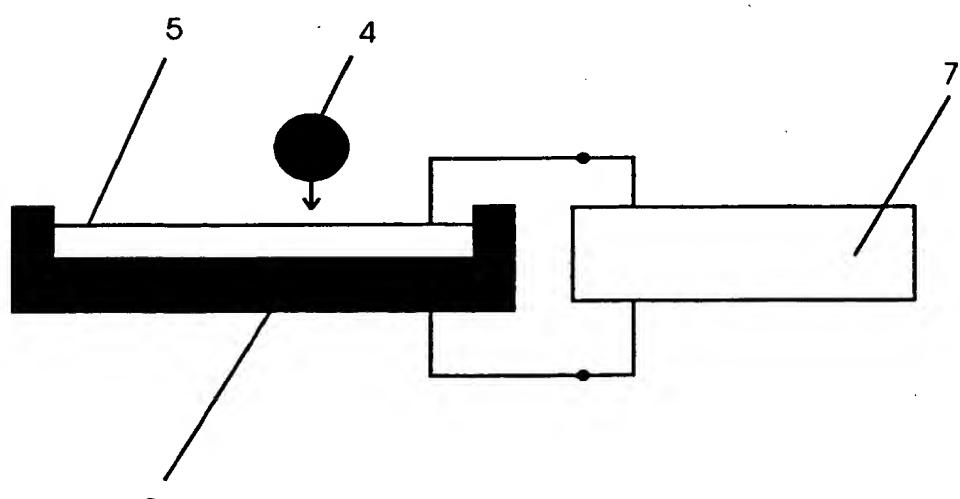


Fig. 4

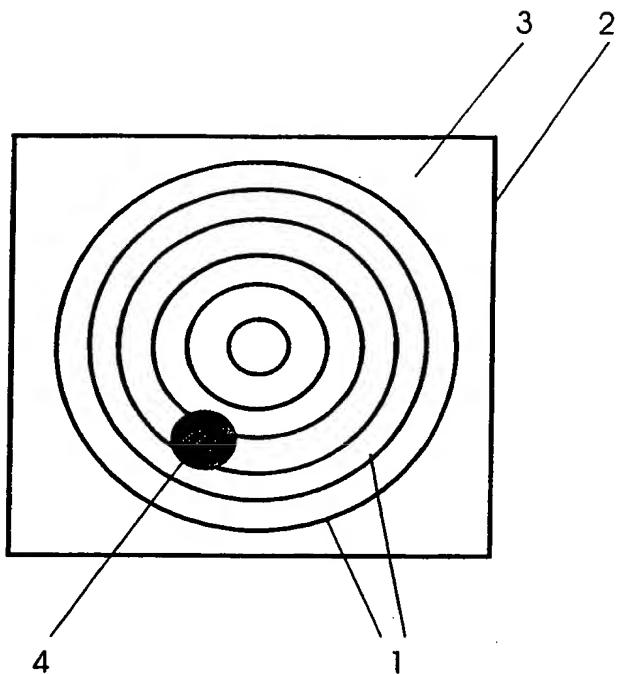


Fig. 2

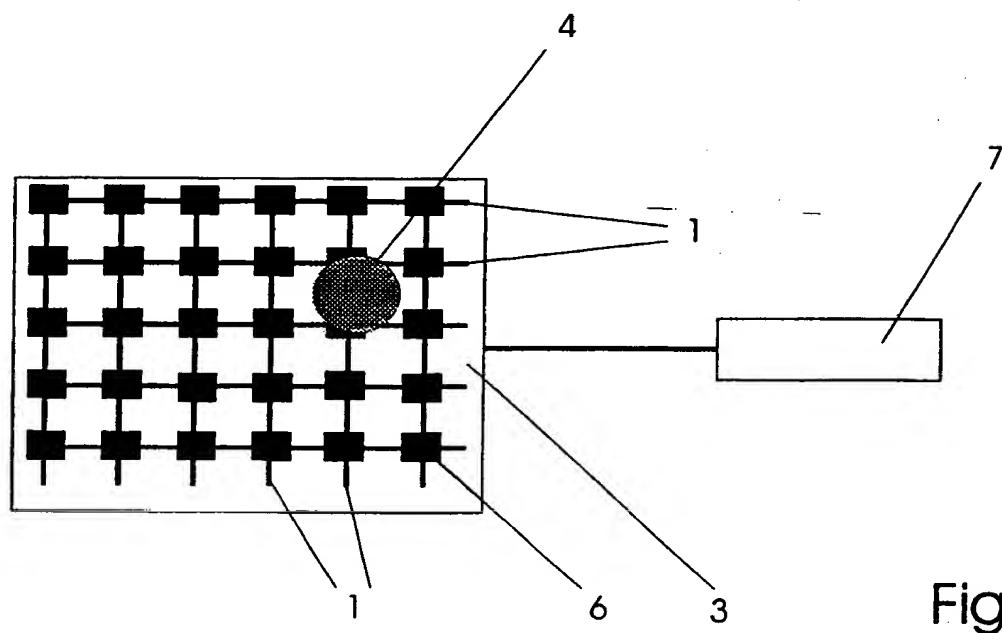


Fig. 5

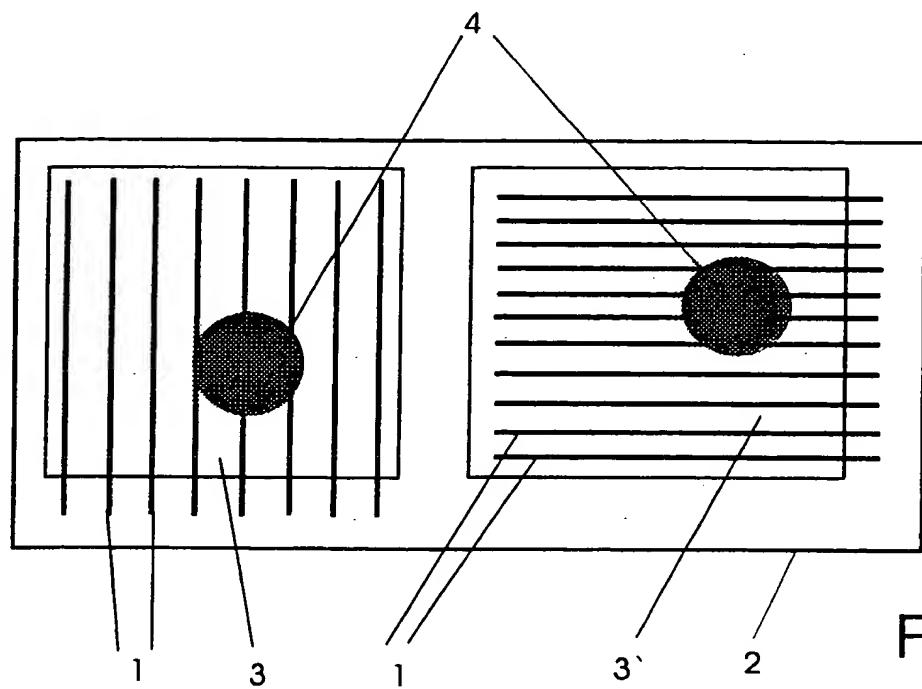


Fig. 6

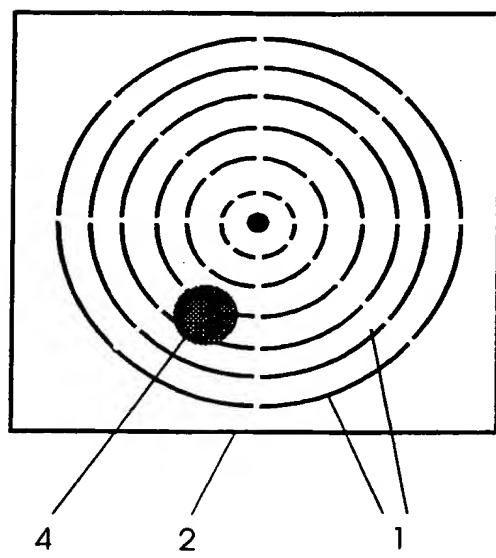


Fig. 7

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern. Application No
PCT/DE 00/00455

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 B01L3/02 //B01J19/00, C12M1/34

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 B01L B01J C12M

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 486 337 A (OHKAWA TIIIRO) 23 January 1996 (1996-01-23) column 1, line 6 -column 1, line 9 column 1, line 34 -column 1, line 42 column 2, line 2 -column 2, line 37 column 5, line 26 -column 5, line 47 column 6, line 50 -column 7, line 52 figures 1-6	1,4,15, 16,18
Y		17
Y		5,6,8,9, 20,21, 23,24

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the International filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the International filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the International filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

19 May 2000

Date of mailing of the international search report

25/05/2000

Name and mailing address of the ISA
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Koch, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter. Application No.
PCT/DE 00/00455

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 93 22678 A (BAYLOR COLLEGE MEDICINE ;HOUSTON ADVANCED RES CENTER (US); MASSACH) 11 November 1993 (1993-11-11) page 3, line 26 -page 4, line 14 page 4, line 20 -page 5, line 12 page 7, line 27 -page 9, line 18	5,6,8,9, 17,20, 21,23,24
Y	page 10, line 1 -page 10, line 27	8,9,17, 21
Y	page 17, line 2 -page 17, line 32	5,6
Y	page 22, line 6 -page 24, line 4	23,24
Y	page 30, line 24 -page 31, line 6	20
	page 39, line 11 -page 39, line 24	
	figures 1-9,14-22	
P,X	DE 197 54 459 A (MAX PLANCK GESELLSCHAFT) 17 June 1999 (1999-06-17) column 1, line 3 -column 1, line 27 column 2, line 8 -column 2, line 37 column 3, line 67 -column 3, line 19 column 4, line 13 -column 4, line 55 figures 1-4	1,8,23, 25
A	WO 97 25531 A (BERKELEY MICROINSTRUMENTS INC) 17 July 1997 (1997-07-17) page 9, paragraph 1 page 9, paragraph 4 page 16, line 1 -page 18, line 17 page 19, paragraph 3 figures 1-6	2,17
A	US 5 000 817 A (AINE HARRY E) 19 March 1991 (1991-03-19) column 1, line 14 -column 1, line 20 column 2, line 7 -column 2, line 60 column 4, line 22 -column 5, line 22 column 7, line 65 -column 8, line 57 figure 12	3,19

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/DE 00/00455

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)		Publication date
US 5486337	A	23-01-1996	NONE		
WO 9322678	A	11-11-1993	US 5846708 A	08-12-1998	
			EP 0638173 A	15-02-1995	
			JP 7508831 T	28-09-1995	
			US 5653939 A	05-08-1997	
DE 19754459	A	17-06-1999	WO 9930169 A	17-06-1999	
WO 9725531	A	17-07-1997	AU 1358697 A	01-08-1997	
US 5000817	A	19-03-1991	US 4732647 A	22-03-1988	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/DE 00/00455

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 B01L3/02 //B01J19/00, C12M1/34

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 B01L B01J C12M

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US 5 486 337 A (OHKAWA TIIRO) 23. Januar 1996 (1996-01-23) Spalte 1, Zeile 6 -Spalte 1, Zeile 9 Spalte 1, Zeile 34 -Spalte 1, Zeile 42 Spalte 2, Zeile 2 -Spalte 2, Zeile 37 Spalte 5, Zeile 26 -Spalte 5, Zeile 47	1,4,15, 16,18
Y	Spalte 6, Zeile 50 -Spalte 7, Zeile 52 Abbildungen 1-6	17 5,6,8,9, 20,21, 23,24
	—	—/—

<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen	<input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie
* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :	
A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist	*T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem Internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist	*X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden
L Veröffentlichung, die gezeigt hat, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)	*Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht	*&* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist
P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist	

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Abschlußdatum des internationalen Recherchenberichts
19. Mai 2000	25/05/2000
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Bevollmächtigter Bediensteter Koch, A

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/DE 00/00455

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	WO 93 22678 A (BAYLOR COLLEGE MEDICINE ; HOUSTON ADVANCED RES CENTER (US); MASSACH) 11. November 1993 (1993-11-11) Seite 3, Zeile 26 -Seite 4, Zeile 14 Seite 4, Zeile 20 -Seite 5, Zeile 12 Seite 7, Zeile 27 -Seite 9, Zeile 18	5,6,8,9, 17,20, 21,23,24
Y	Seite 10, Zeile 1 -Seite 10, Zeile 27	8,9,17, 21
YY	Seite 17, Zeile 2 -Seite 17, Zeile 32	5,6
Y	Seite 22, Zeile 6 -Seite 24, Zeile 4 Seite 30, Zeile 24 -Seite 31, Zeile 6 Seite 39, Zeile 11 -Seite 39, Zeile 24 Abbildungen 1-9,14-22	23,24 20
P,X	DE 197 54 459 A (MAX PLANCK GESELLSCHAFT) 17. Juni 1999 (1999-06-17) Spalte 1, Zeile 3 -Spalte 1, Zeile 27 Spalte 2, Zeile 8 -Spalte 2, Zeile 37 Spalte 3, Zeile 67 -Spalte 3, Zeile 19 Spalte 4, Zeile 13 -Spalte 4, Zeile 55 Abbildungen 1-4	1,8,23, 25
A	WO 97 25531 A (BERKELEY MICROINSTRUMENTS INC) 17. Juli 1997 (1997-07-17) Seite 9, Absatz 1 Seite 9, Absatz 4 Seite 16, Zeile 1 -Seite 18, Zeile 17 Seite 19, Absatz 3 Abbildungen 1-6	2,17
A	US 5 000 817 A (AINE HARRY E) 19. März 1991 (1991-03-19) Spalte 1, Zeile 14 -Spalte 1, Zeile 20 Spalte 2, Zeile 7 -Spalte 2, Zeile 60 Spalte 4, Zeile 22 -Spalte 5, Zeile 22 Spalte 7, Zeile 65 -Spalte 8, Zeile 57 Abbildung 12	3,19

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 00/00455

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
US 5486337	A	23-01-1996	KEINE		
WO 9322678	A	11-11-1993	US	5846708 A	08-12-1998
			EP	0638173 A	15-02-1995
			JP	7508831 T	28-09-1995
			US	5653939 A	05-08-1997
DE 19754459	A	17-06-1999	WO	9930169 A	17-06-1999
WO 9725531	A	17-07-1997	AU	1358697 A	01-08-1997
US 5000817	A	19-03-1991	US	4732647 A	22-03-1988